

Оценка цитотоксичности урсоловой кислоты, выделенной из водяники черной, методом резазурин-теста в культуре лимфоцитов человека

Научный руководитель – Белоусов Михаил Валерьевич

Безверхняя Екатерина Александровна

Аспирант

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Институт природных ресурсов, Томск, Россия
E-mail: yekaterinabezv@mail.ru

Водяника черная (лат. *Empetrum nigrum* L.) широко применяется в народной медицине в виде водных настоев и отваров в терапии эпилепсии и нейродегенеративных заболеваний. Ранее был установлен противосудорожный эффект липофильной ацетоновой фракции, выделенной из водяники черной на различных моделях судорог. Фитохимический состав активной фракции представлен халконами и тритерпеновыми соединениями, среди которых доминирующим компонентом является урсоловая кислота [1]. Доклинические токсикологические исследования экстрактов водяники черной, проведенные на базе Сибирского государственного медицинского университета и НИИФиРМ им. Гольдберга, показали их низкую токсичность в сравнении с синтетическими противоэпилептическими препаратами на моделях *in vivo* [2].

Фармакологический скрининг перспективных лекарственных кандидатов включает предварительную оценку их безопасности методами *in vitro*. Резазурин-тест является методом оценки цитотоксичности веществ, основанным на оценке метаболической активности клеток и их способности восстанавливать голубой нефлуоресцирующий резазурин до розового флуоресцентного резорурфина, который можно определить колориметрически или флуориметрически.

Цель работы - оценка цитотоксического действия урсоловой кислоты, выделенной из водяники черной, методом резазурин-теста в культуре лимфоцитов человека.

Культуру лимфоцитов человека получали по методу градиентного разделения цельной крови на фракции, описанному Дж. Клаусом. Клетки рассеивали на 96-луночный планшет в количестве 50000 клеток/мл среды и в объеме 100 мкл суспензии на лунку в среде RPMI (ООО «ПанЭко», Россия). Урсоловую кислоту в виде раствора в ДМСО вносили в следующих концентрациях: 100 μ M, 75 μ M, 50 μ M, 35 μ M, 17,5 μ M, 8,7 μ M, 4,4 μ M. Клетки инкубировали 24 ч. Положительный контроль - культура лимфоцитов. Резазурин (Sigma-Aldrich, США) растворяли в фосфатном солевом буфере в концентрации 0,2 мг/мл, фильтровали через стерильный шприц-фильтр и хранили в защищенном от света контейнере. 10 μ л раствора резазурина добавляли в каждую лунку планшета и инкубировали при температуре 37° С 4 часа. Измерение оптического поглощения содержимого каждой лунки проводили на планшетном спектрофотометре Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, Финляндия) на двух длинах волн: 570 нм (рабочая) и 620 нм (сравнение). Эксперименты были выполнены в трех повторностях. Рассчитывали процент жизнеспособных клеток в каждой опытной лунке относительно лунок положительного контроля, жизнеспособность которых принимали за 100%.

Максимальный процент жизнеспособных клеток составил 92,5% при концентрации урсоловой кислоты 8,7 μ M.

Источники и литература

- 1) Bezverkhniaia E.A., Povet'eva T.N., Kadyrova T.V., Suslov N.I., Nesterova Yu.V., Afanas'eva O.G., Kul'pin P.V., Yusova Yu.G., Ermilova E.V., Miroshnichenko A.G., Brazovskii K.S., Belousov M.V. // Research Results in Pharmacology. 2020. Screening Study for anticonvulsive activity of lipophilic fractions from *empetrum nigrum* L.. V. 6. № 3. p. 67–73.
- 2) Саратиков А. С., Новожеева Т. П., Лившиц Н. С., Бурченкова Ф. И., Кадычагова Н. Г., Мелик-Гайказян Е. В., Ахмеджанов Р.Р., Перевозчикова Т.В., Баширова Л. В. Доклиническое токсикологическое изучение экстракта из надземной части *Empetrum nigrum* L. // Растительные ресурсы. 2003. Т.39, № 2. С. 91-94.